ISTITUTO DI ZOOLOGIA E ANATOMIA COMPARATA DELLA R. UNIV. DI MILANO
DIRETTO DAL PROF. S. RANZI

Luciana Semenza

SULLA INTERAZIONE DI QUATTRO GENI CHE AGISCONO SULLA FORMA DELL'OCCHIO DI *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG.

Con questa ricerca [1] mi sono proposta di studiare comparativamente l'azione di diversi geni; affinchè sia però valido il metodo comparativo è necessario scegliere geni ad azione fra loro simile, e poichè le scarse conoscenze finora da noi possedute sui processi di estrinsecazione di un carattere non ci permettono di comparare geni diversi se non in quanto è simile la loro manifestazione finale, dobbiamo senz'altro prendere in esame geni le cui manifestazioni o fenotipo interessano lo stesso organo. I procedimenti che si possono usare per queste ricerche hanno carattere di sintesi, in quanto mediante incroci si immettono nel genoma più mutazioni che si estrinsecano su un dato organo. L'influenza di questi geni sul nuovo fenotipo, che può essere molto varia, è riconducibile a due tipi.

1) I geni determinano reazioni fondamentalmente diverse che non interferiscono una con l'altra. Il fenotipo, in questo caso, mostrerà, l'una accanto all'altra, le differenti manifestazioni. Risultati riconducibili a queste conclusioni sono stati ottenuti da ČSIK (1934) nella drosofila. Egli ha studiato l'azione reciproca dei geni non allelomorfi *Minute*, *cut*^{6}, *dumpy*, *expanded*, le cui manifestazioni provocano smangiatura delle ali. Alcuni di questi caratteri possono essere indipendentemente combinati senza interferire.

---

[1] Per questo lavoro, eseguito per consiglio del Prof. C. Barigozzi, mi sono valsa dei ceppi *Bar, eyeless, so'*, avuti dall'Istituto di Zoologia « L. Spallanzani » della R. Università di Pavia, che sentitamente ringrazio.

2) I geni determinano azioni fondamentalmente simili, che interferiscono fra loro, al punto da dare origine, talvolta, ad aspetti che non compaiono quando i geni si trovano in genomi diversi. Un'influenza indiretta si ha quando, per esempio, uno dei geni modifica il valore del pH durante l'estrinsecarsi dell'altro (come nel succo nucleare di *Primula sinensis*; SCOTT-MONCRIEF, 1937); diretta, quando l'interazione dei due geni raggiunge l'effetto di uno stato di compromesso tra le due manifestazioni. Posso citare come esempio la ricerca compiuta da HERSH (1929) sulla combinazione di *Bar* con altri mutanti del cromosoma X. I geni usati furono: *scute*, *echinus*, *crossveinless*, *cut*, *vermilion*, *garnet*; l'Autore potè constatare che, mentre certi mutanti accrescono, altri diminuiscono l'azione del *Bar*, e funzionano quindi più o meno come modificatori. Se sono interessati nella combinazione in numero maggiore di una coppia, l'azione può essere cumulativa oppure uguale a quella di uno dei mutanti. Lo stesso gene può avere una differente azione modificatrice in due combinazioni diverse. Inoltre non c'è relazione fra le normali manifestazioni conosciute in questi geni e quelle che essi estrinsecano nelle combinazioni.

Tra il primo e il secondo gruppo esistono casi intermedi. Ad esempio TRAPANI (1943) notò una prevalente indipendenza, ma con lieve interferenza, nei due geni *cut*^{218} e *facet-notchy*, entrambi agenti sul margine e sulle vene delle ali di *Drosophila melanogaster*.

Per quello che si riferisce in particolare all'occhio della drosofila, mi sono note ricerche sulle combinazioni di geni che agiscono tanto sul colore (WRIGHT, 1932; CREW e LAMY 1932; MAINX, 1937), quanto sulle dimensioni. Queste sono le già citate di HERSH, e una di DUNN e COYNE (1937). Quest'ultima si basa sulla combinazione di varî *Minute* che mostrano una serie crescente di effetti ritardanti sullo sviluppo, con *Lobe*, gene che riduce la dimensione dell'occhio, a seguito di un cambiamento dei rapporti di crescita fra occhio e corpo. Nelle combinazioni tra *M* e *L* l'occhio è più ridotto che nel ceppo *Lobe* e il grado di riduzione è parallelo alla serie crescente dei *Minute*. In questo caso dunque è l'influenza ritardante della crescita della reazione *Minute* che interferisce con lo sviluppo dell'occhio di *Lobe* fondendosi in un unico effetto additivo.

Noto che nessun Autore a me conosciuto si è occupato della interazione dei geni sulla forma vera e propria dell'occhio, che

sappiamo essere assai differente in mutazioni come *Bar*, *eyeless*, *kidney* ecc.

Mi sono dunque proposta di studiare come reagiscano fra di loro geni caratterizzati da un'azione sulla forma dell'occhio. I geni da me usati sono stati i quattro seguenti: *Bar* (*B*), *eyeless*^{2} (*ey*^{2}), *senza occhi* (*so*') e *occhio triangolare* (*otri*). Essi appartengono a ceppi differenti, e hanno perciò, presumibilmente, genomi fra loro diversi anche per altri *loci* non conosciuti e senza manifestazioni visibili.

Avverto dunque senz'altro che le esperienze da me compiute non tengono conto di modificatori diversi, presenti eventualmente nei differenti ceppi studiati.

Il mutante *B* del primo cromosoma presenta l'occhio ridotto ad una stretta sbarra verticale (fig. 1 *b*). In *ey*^{2} (4° cromosoma)

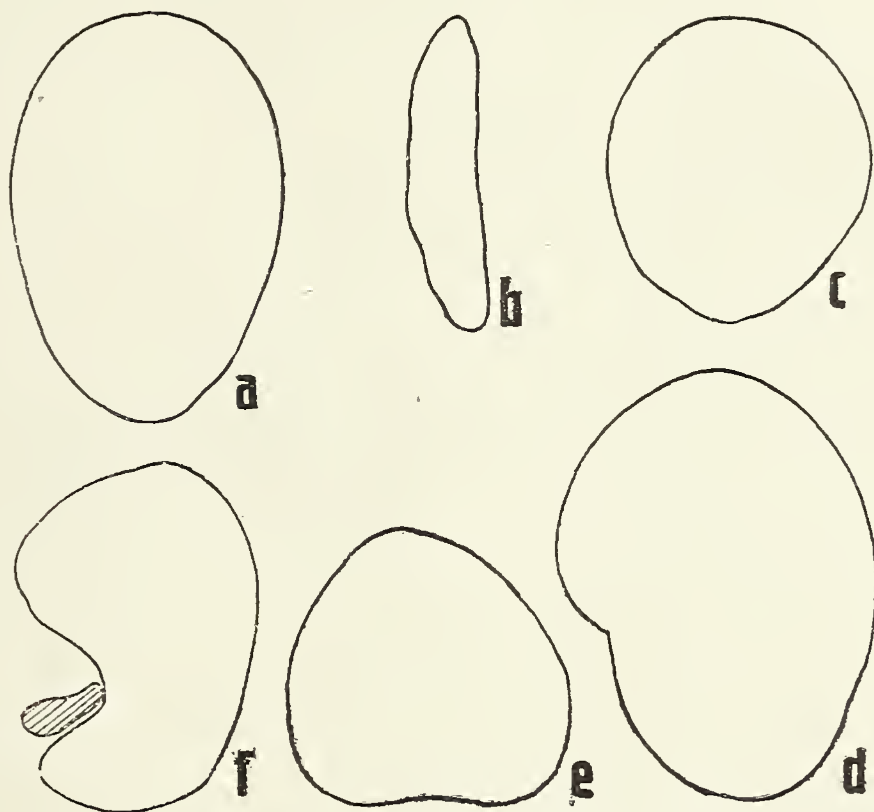


Fig. 1. — Contorno di occhio: *a*, normale (ceppo Oregon) - *b*, *Bar* (maschio) - *c*, *eyeless*^{2} - *d*, *e*, *f*, *otri* (in *f* l'area tratteggiata rappresenta l'escrescenza priva di ommatidi). × 78

la riduzione della superficie dell'occhio è abbastanza regolare lungo tutto il margine, in modo che ne risulta un occhio pressochè circolare, la cui superficie è pari a un mezzo o a un terzo dell'occhio normale. La manifestazione del carattere è in genere abbastanza costante in tutto il ceppo (fig. 1 *c*). La mutazione *so*' (2° cromosoma) proviene dall'Istituto di Zoologia « L. Spallanzani » della R. Università di Pavia, dove insorse spontanea in

quegli allevamenti, e in forte percentuale di casi mostra la scomparsa dei due occhi; alcuni individui sono privi di un solo occhio, e l'unico presente è ridotto ad un piccolo numero di ommatidi collocati dorsalmente nell'area oculare; molto raramente compaiono entrambi gli occhi ridottissimi.

Il quarto mutante di cui mi sono servita, *otri* (occhi triangolari) comparve spontaneamente negli allevamenti dell'Istituto di Zoologia della R. Università di Milano, fu da me isolato, e ne determinai la collocazione nel secondo cromosoma. Siccome non venne mai altrove descritta, mi indugio qui su qualche particolare.

Questa mutazione si può considerare come una variante del contorno dell'occhio nel quale si produce una intaccatura sul margine anteriore o su quello inferiore, accompagnata spesso da un rimpicciolimento generale della superficie. A volte la deformazione interessa anche la convessità dell'occhio, che risulta irregolare con sporgenze e rientranze.

La manifestazione di questo carattere è notevolmente variabile. Le riduzioni di superficie e le deformazioni che più frequentemente appaiono si possono ordinare in una serie che va da una incisura nel mezzo del margine anteriore dell'occhio, mentre il resto è normale, fino ad assumere l'aspetto di un triangolo ad angoli smussati o di cuore. In qualche caso, nella zona incisa, emerge un'escrescenza priva di ommatidi, a volte molto voluminosa, che assume ai lati del capo l'aspetto di cono, con alla base ommatidi e setole (fig. 1, *d*, *e*, *f*).

Naturalmente questi diversi modelli di occhio non sono i soli che appaiono nel ceppo, ma ne rappresentano le forme più frequenti e quelle a cui le altre sono più o meno riconducibili.

Non ho trovato alcuna differenza nella manifestazione in relazione al sesso. Le mie osservazioni sulla penetranza mi hanno portato a considerare il ceppo *otri* come un ceppo a scarsa penetranza (circa il 30 %). Ho notato però un aumento della penetranza, unito ad un aumento della espressività del carattere, in relazione a temperatura ambientale più elevata. Del resto, per molti mutanti della forma dell'occhio, il fenomeno della influenza della temperatura, sia sulla penetranza, sia sulla manifestazione è ben noto.

Mediante selezione di individui provenienti da incrocio e crossing-over, ho allestito le combinazioni seguenti, delle quali

mi sono proposta lo studio fenotipico:

B - otri *B - ey*^{2} *B - so*' *otri - ey*^{2}

Data la collocazione di *Bar* nel primo cromosoma, dall'incrocio *B - otri* ho ottenuto per i ♂♂ la sola combinazione *B otri/otri*, mentre per le ♀♀ le due *B/+ otri/otri* e *B/B otri/otri*.

L'esame dell'occhio di questi individui dimostra che esso presenta i caratteri dei due mutanti combinati; naturalmente, essendo la manifestazione di *otri* molto variabile, le riduzioni dovute a questo gene assumono valori molto diversi da individuo a individuo.

Ecco il risultato delle mie osservazioni:

♂ *B otri/otri* - l'occhio più frequentemente appare incurvato, simile a un *Bar* con forte concavità anteriore (fig. 2 *a*) il cui margine inciso è spesso piuttosto irregolare (fig. 2 *b*). Qualche volta l'incisura provoca la scissione dell'occhio in due parti di dimensioni più o meno differenti (fig. 2 *c*). L'irregolarità del

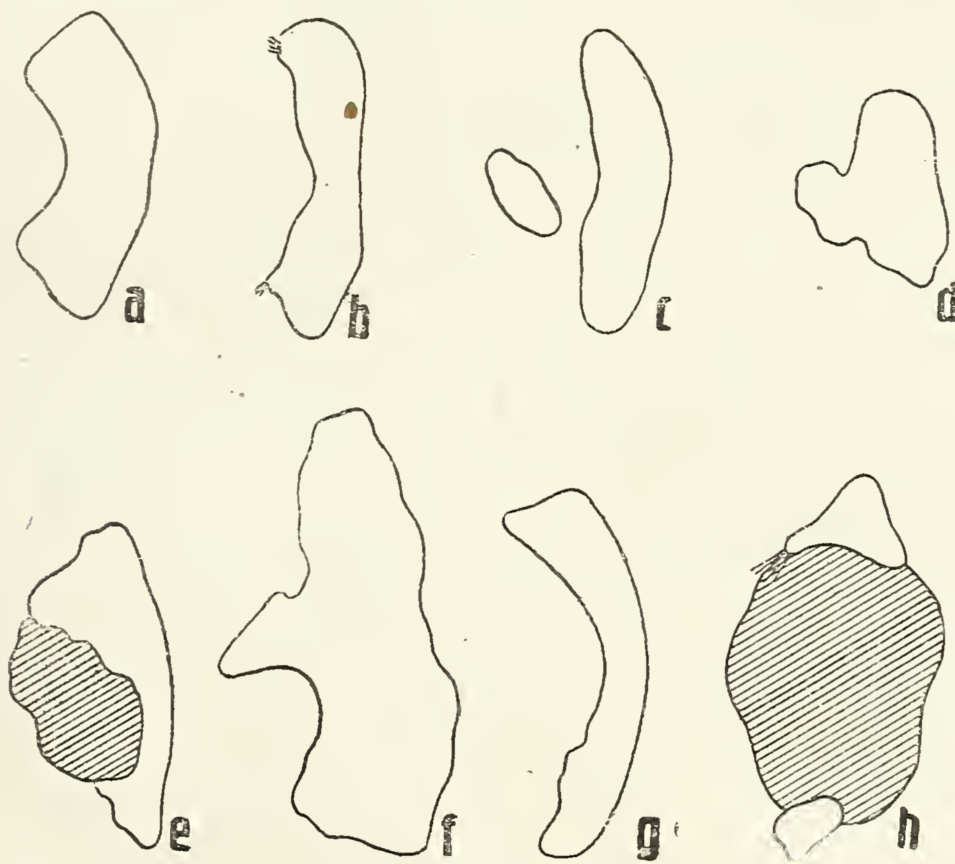


Fig. 2. — Contorno di occhio: *a, B otri/otri* - *b, B otri/otri* (con ciuffetti di peli) - *c, B otri/otri* (gli ommatidi sono raggruppati in due aree) - *d, B otri/otri* (particolarmente irregolare) - *e, B otri/otri* (l'area tratteggiata indica un'escrescenza priva di ommatidi) - *f, B/+ otri/otri* - *g, B/B otri/otri* - *h, B/B otri/otri* (gli ommatidi sono divisi in due aree separate da una escrescenza). × 78

margine anteriore, si esplica a volte, invece che con intaccature, con sporgenze più o meno pronunciate, unite spesso ad una forte riduzione del diametro dorso-ventrale (fig. 2 *d*). In un certo numero di casi appaiono, sul margine anteriore, escrescenze biancastre, prive di ommatidi, tipiche del mutante *otri* (fig. 2 *e*).

♀ *B*/+ *otri*/*otri* - come regola, in questa combinazione, la riduzione antero-posteriore è poco pronunciata e l'occhio assomiglia notevolmente a quello *B*/+ ; il margine anteriore presenta però incisure e irregolarità dovute all'azione di *otri* (fig. 2 *f*).

Spesso si nota forte asimmetria. Qualche volta l'incisura, molto pronunciata, può separare le porzioni sporgenti dall'occhio vero e proprio, e spesso appaiono le escrescenze biancastre già ricordate.

♀ *B*/*B* *otri*/*otri* - la forma a sbarra, tipica del *Bar* omozigote, compare sempre in questa combinazione, accompagnata dalle manifestazioni molto irregolari di *otri*. L'occhio, in numerosi casi, appare intaccato ed arcuato (fig. 2 *g*) ; frequentemente però si ha una pronunciata riduzione del diametro dorso-ventrale.

L'occhio si può scindere in due porzioni ; spesso, inoltre, compaiono escrescenze, molto voluminose e che occupano gran parte del margine anteriore (fig. 2 *h*).

♂ *B* ey^2/ey^2 - l'occhio è molto piccolo, con margini quasi sempre irregolari (fig. 3 *a*). Spesso gruppetti di ommatidi rimangono isolati dall'occhio vero e proprio (fig. 3 *b*). Questa manifestazione è completamente nuova, non essendo mai comparsa nè nell'occhio *B* nè in quello ey^2. È dunque un effetto della combinazione dei due geni.

♀ *B*/+ ey^2/ey^2 - la superficie dell'occhio non appare molto ridotta e la forma è assai vicina a quella del *B*/+. Ne differisce perchè il diametro dorso-ventrale è più ridotto e quindi l'occhio

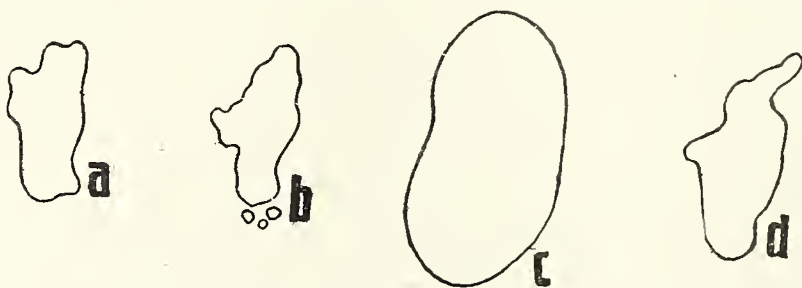


Fig. 3. — Contorno di occhio : *a*, *B* ey^2/ey^2 - *b*, *B* ey^2/ey^2 (con piccole aree di ommatidi isolate) - *c*, *B*/+ ey^2/ey^2 - *d*, *B*/*B* ey^2/ey^2. × 78

assume l'aspetto piuttosto tondeggiante che allungato (fig. 3 *c*). Spesso il margine è un pò irregolare e si ha asimmetria fra i due occhi.

♀ *B*/ *B* ey^2/ ey^2 - le ♀♀ omozigoti per i due mutanti *B* e ey^2, hanno la superficie dell'occhio estremamente ridotta. Il contorno può essere frastagliato (fig. 3 *d*) oppure no. A volte una piccola parte dell'occhio rimane separata; anche questo fenomeno è completamente nuovo.

Nella F_2, per ottenere la combinazione *B* - *so'*, sono comparsi soltanto individui con il carattere *B* o il carattere *so'*. Non essendo quindi apparso alcun fenotipo *B so'*, è evidente che non vi è alcuna interazione fra questi due geni, o che la combinazione *B*-*so'* non è vitale.

Gli omozigoti *otri*/*otri* ey^2/ey^2 presentano occhi ridottissimi come in *B* - ey^2 e assai più che in ey^2 (fig. 4 *a*), spesso con due gruppi di ommatidi posti verso gli estremi superiore e inferiore (fig. 4 *b*). Notevole è l'asimmetria dei due occhi.

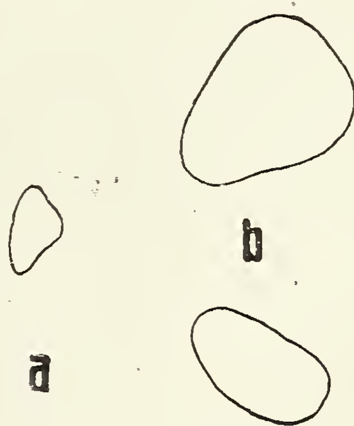


Fig. 4. — Contorno di occhio: *a, otri*/*otri* ey^2/ey^2 - *b, otri*/*otri* ey^2/ey^2 (gli ommatidi sono raggruppati in due aree). × 78

In complesso posso dire che la presenza contemporanea dei due geni conduce ad una manifestazione dell'occhio accostabile a quella di *so'*.

C o n c l u d e n d o :

Dalle combinazioni *B*-*otri* e *B*-ey^2 risulta:

1) L'azione dei due geni si combina in modo che nel fenotipo sono perfettamente riconoscibili tanto l'azione dell'uno quanto quella dell'altro gene.

2) I due geni ey^2 e *otri* aggiunti a *B*, hanno un'azione additiva sull'impicciolimento, nel senso che, specialmente *B* ey^2, risulta più piccolo di quando *B* e ey^2 non sono combinati.

3) L'intaccatura del margine dell'occhio appare molto irregolare, provocando, a volte, una frastagliatura.

4) Compaiono delle striscie di tessuto senza ommatidi, che dividono l'occhio in due o più porzioni.

5) Appare una variabilità notevole da caso a caso, sopratutto in *B otri*.

6) Dalla combinazione *otri*-ey^2 risulta che la riduzione dai due geni è molto intensa, come se essi sommassero le proprie azioni riduttrici. L'area visiva, ridottissima, è spesso divisa in due porzioni, come se la concavità indotta da *otri* fosse accentuata dall'immissione nel ceppo ey^2.

Dai risultati delle esperienze mi è parso di poter distinguere i mutanti di cui mi sono servita in due gruppi.

Un primo comprende i geni *B*, ey^2, *otri*, che funzionano come tre elementi diversi, ciascuno dei quali fa sentire la propria azione ben specifica sulla forma dell'occhio; infatti *B* provoca la riduzione della superficie in senso antero-posteriore, ey^2 agisce sottraendo una completa fascia marginale di faccette e mantenendo la forma dell'occhio pressochè intatta, mentre *otri* sembra essere il gene che determina concavità o comunque irregolarità sul margine anteriore. Inoltre questo mutante apporta nelle sue combinazioni la propria estrema variabilità di manifestazione.

Al secondo gruppo appartiene *so'* che, almeno nella combinazione col *B*, agisce come un inibitore che annulla del tutto, o quasi, la formazione dell'occhio, non permettendo alcuna manifestazione dell'altro mutante, che entrerebbe presumibilmente in azione in un secondo tempo, quando fosse esclusa la letalità della combinazione *B*-*so'*.

Se mi riferisco alla distinzione fatta in principio fra geni che interferiscono fra loro nella loro azione e geni indipendenti, posso affermare che *B*, *otri* e ey^2, rientrano nella prima e *so'* nella seconda categoria. A proposito di quest'ultima, posso aggiungere che potrebbe trattarsi di una indipendenza completa, senza cioè nulla di ciò che ebbe occasione di descrivere Trapani (1943) per le mutazioni ct^{218} e fa^{no}.

Noterò, infine, che la mia ricerca ha confrontato individui con uno o con due geni *B* (rispettivamente nel sesso maschile e in quello femminile) e mi permette così di accennare al problema delle dosi geniche. Infatti io ho considerato non solo le femmine *B*/*B* *otri*/*otri* e *B*/*B* ey^2/ey^2, ma bensì le eterozigoti *B*/+ *otri* *otri* e *B*/+ ey^2/ey^2. Ho potuto constatare che le femmine eterozigoti

sono molto diverse dalle omozigoti, mentre queste differiscono pochissimo dai rispettivi maschi. Ciò significa che nella manifestazione si fa sentire la presenza dell' allele normale di *B*, fatto perfettamente prevedibile in base alla ben nota osservazione della compensazione di dose nella condizione del sesso maschile con un solo cromosoma X.

Conclusioni.

1. - I geni *B* (1^0 cromosoma) ey^2 (4^0 cromosoma) *so'* e *otri* (ambedue nel 2^0 cromosoma ma non allelomorfi) sono stati portati a due a due nello stesso genoma, e studiati nella loro estrinsecazione.

2. - *B*, ey^2 e *otri* (quest' ultimo descritto per la prima volta) influiscono collettivamente sulla forma dell' occhio, che risente così, contemporaneamente, dei geni combinati.

Si può dunque dire che le azioni di questi geni sono in grado di interferire. In particolare *B* e ey^2 combinati determinano la comparsa di gruppi di ommatidi isolati che nei ceppi *B* e ey^2 non si osservano mai.

3. - Non furono osservate reazioni fra *B* e *so'*.

4. - Nelle combinazioni con *B* si è riscontrato che la dose semplice di *B* nel maschio agisce diversamente dalla dose semplice con allele normale, come si riscontra nellla femmina eterozigote.

LAVORI CITATI

CREW F. A. e LAMY R. J.: *Genetics,* 26, 351 (1932).
ČSIK L.: *Biol. Zentr.,* 54, 614 (1934).
DUNN L. C. e COYNE J.: *Hereditas,* 23; (1937).
HERSH A. H.: *Americ. Naturalist,* 63, 378 (1929).
MAINX F.: *Zeit. ind. Abst. u. Vererb.,* 73, 470, (1937).
SCOTT MONCRIEF R. in: NEEDHAM J. and GREEN D. E.: *Perspectives in Biochemistry,* Cambridge, (1937).
TRAPANI E.: *Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett. - Cl. Scienze,* 76, 344 (1943).
WRIGHT S.: *Amer. Naturalist,* 66, 479 (1935).